

DOI: 10.12264/JFSC2021-0556

## 大型河流中鱼类组成的 eDNA 监测效率：以长江武汉江段为例

杨海乐, 吴金明, 张辉, 杜浩, 李君轶, 王成友, 沈丽, 刘志刚, 危起伟

中国水产科学研究院长江水产研究所, 农业农村部淡水生物多样性保护重点实验室, 湖北 武汉 430223

**摘要:** 为了探讨大型河流中的 eDNA 监测效率, 以长江为大型河流的代表, 以鱼类为水生生物的代表, 分析传统捕捞监测和 eDNA 监测结果的差异, 研究 eDNA 监测技术对长江武汉江段鱼类组成的监测能力、监测效率、平行样设置等问题。结果显示: (1) 用 1 对 eDNA 宏条形码引物(mICOintF/jgHCO2198R)共监测到 89 种鱼类, 其中 30 种可与历史捕捞调查记录互相确认, 另外 59 种需要更完善的条形码数据库来解决序列比对注释问题; (2) 9 月在武汉监测断面, 可用单引物(mICOintF/jgHCO2198R) eDNA 监测到的物种最优估计约 99 种, 单样品 eDNA 监测的鱼类物种检出能力约为 26 种, 检出效率约为 25.8%; (3) 在 80% 的检出度目标下, 需要约 10 个平行样, 在 95% 的检出度目标下, 需要约 17 个平行样。本研究在长江武汉江段鱼类 eDNA 监测效率和平行样设置的相关量化结果可为长江其他断面及其他大型河流的 eDNA 监测提供量化参考。同时, 研究表明, 更完善的 DNA 宏条形码数据库和合适的平行样设置是未来 eDNA 监测作为常规监测手段进行运用的前提。

**关键词:** 长江; 鱼类; 种类组成; eDNA 宏条形码; eDNA 监测; 监测效率

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)06-0796-12

生物多样性调查监测是生物多样性研究、保护和管理的基石<sup>[1-5]</sup>。大型河流是全球水生生物多样性的关键区域, 随着人类对水资源的开发、内河航运的发展以及沿江沿河人类活动的增强, 水生生态系统面临越来越大的退化压力, 水生生物多样性也面临着越来越大的危机<sup>[6-12]</sup>。为了支撑、推动和落实大河流域的水生生物保护, 科学监测和评估大型河流中的水生生物(尤其是鱼类)组成和资源至关重要<sup>[13]</sup>。当前的鱼类监测评估主要依赖于传统的捕捞监测和水声学监测, 其中捕捞监测往往限于人力和资源, 调查站点布局空间密度较低, 调查结果往往也是依靠一段时间调查数据的积累, 调查结果的时空分辨率、时效性、费效比都较低<sup>[14-15]</sup>。水声学监测可以给出较高时空分辨率和时效性的结果<sup>[16-17]</sup>, 但截至目前只对少数

鱼类有水声学种类识别的研究<sup>[18-20]</sup>, 在实际调查监测中对大多数鱼类种类都还无法进行水声学识别<sup>[16-17]</sup>。因此, 急需新的有效的在大型河流中可用的监测技术、监测方案的补充和介入。

eDNA 宏条形码(environmental DNA metabarcoding)技术为水生生物监测评估提供了一种新的技术和方案<sup>[21-25]</sup>。所有生物都会在其生存环境中留下其 DNA 痕迹, 从水体、沉积物、土壤、混合物等环境样品中直接提取 DNA, 利用宏条形码和高通量测序技术对其进行定性或定量分析, 可以高效率地实现非接触、无损伤的多物种(或高级分类单元)监测<sup>[22-23, 25-28]</sup>。目前有大量研究已经探讨了 eDNA 监测的时间限<sup>[29-31]</sup>、空间限<sup>[25, 32-33]</sup>, 并且有越来越多的研究确认 eDNA 对物种组成的监测效率比传统捕捞监测的效率<sup>[34-38]</sup>。但对大型

收稿日期: 2021-02-03; 修订日期: 2021-03-22.

基金项目: 农业农村部财政专项(CJDC-2017-14); 中国水产科学研究院基本科研业务费项目(2020JBF01); 中国水产科学研究院基本科研业务费创新团队项目(2020TD08).

作者简介: 杨海乐(1987-), 男, 助理研究员, 博士, 研究方向为流域生态学和保护生物学, E-mail: haileiyang18@yfi.ac.cn; 共同第一作者, 吴金明(1984-), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为濒危鱼类保护, E-mail: jinming@yfi.ac.cn

通信作者: 危起伟, 研究员, 研究方向为濒危鱼类保护. E-mail: weiqw@yfi.ac.cn.

河流中水生生物的 eDNA 监测效率, 即单 eDNA 样品的物种组成检出能力, 鲜见相关定量研究。

长江是世界第三长河, 是典型的大型流水水体, 也是对中国经济社会发展贡献最大的一个淡水生态系统。随着经济社会发展需要, 人类活动对长江生态系统的影响逐渐增大并积累, 导致了长江生态环境退化、长江鱼类种群衰减和物种丧失等问题<sup>[11-12, 39-41]</sup>, 为此, 中国政府提出长江大保护战略, 并逐步实施长江禁捕政策<sup>[42-45]</sup>。为支撑长江大保护相关具体管理决策和长江“十年禁渔”效果评估, 急需探索建立长江水生生物 eDNA 监测技术体系。

为了给大型河流中水生生物的 eDNA 监测技术体系建设提供支持, 呼应长江水生生物 eDNA 监测的探索需求, 本研究以长江为大型河流的代表, 以鱼类为水生生物的代表, 基于前人的研究成果, 在长江武汉江段针对大型河流中鱼类组成的 eDNA 监测效率开展定量研究。2020 年 9 月份, 本研究在长江武汉江段针对鱼类组成并行开展了传统捕捞监测和 eDNA 监测, 为了聚焦科学问题——单 eDNA 样品的物种组成检出能力, 本研究 eDNA 监测只分析一对引物的检出结果, 传统捕捞监测只统计一种网具的捕捞渔获。通过 eDNA 监测结果与传统捕捞监测结果的分析, 探讨 eDNA 监测大型河流中鱼类组成的检出能力、检出效率、平行样设置等问题。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区域

2020 年 9 月 12—28 日期间, 在长江中游干流武汉市新洲区双柳镇江段左岸长约 2000 m, 宽约 600 m 的作业区域, 中心坐标北纬 30°34'14", 东经 114°38'36", 并行开展了捕捞监测(15 d)和 eDNA 监测(13 d)。监测期间, 水温在 23.1~26.2 °C 间, 参考水文站汉口站的监测水位在 24.24~25.24 m 之间, 监测流量在 36300~44800 m<sup>3</sup>/s 之间。

### 1.2 捕捞监测

捕捞网具为高 3 m, 宽 400 m 的 2.5 指流刺网, 每天捕捞 2~3 网次, 共 37 网次。所捕获全长超过 50 cm 的常见鱼类物种活个体, 经全长、体长、体

重测量后放归, 其他捕获个体放入冰浴泡沫箱保低温, 带回实验室进行物种辨识、个体测量、解剖采样等相关室内作业。对每天捕捞监测到的物种组成进行分析, 统计本次捕捞监测到的物种组成, 统计监测逐日累计物种数, 用 EstimateS (Version 9.1.0, Copyright R. K. Colwell: <http://purl.oclc.org/estimates>) 计算监测结果的物种积累曲线。基于物种积累曲线计算每增加 1 d 捕捞监测所增加的新物种记录数, 对新物种记录数对监测天数进行指数回归, 估算随着捕捞监测天数增加所可能达到的最大物种数。统计单天监测的监测效率, 估算检出 80%、90%和 95%的物种所需的监测天数。对本次捕捞监测的渔获物结构进行分析, 计算各物种总的数量占比和重量占比。

### 1.3 eDNA 监测

在每天捕捞监测最后一网次捕捞下网后进行流网时, 用无菌采样瓶采集上层水水样 1.5 L。在正式采集水样并封装之前, 用所要采的水涮洗 3 次。所采集的水样封装好之后放入冰浴泡沫箱(独立于渔获物的专设冰浴泡沫箱)保低温, 带回实验室用 0.2 μm 孔径滤膜进行抽滤(采样后 12 h 内处理完毕), 获得存留了 eDNA 的滤膜, 放入 50 mL 无菌离心管, 用自封袋装好, -80 °C 冰箱保存, 置于泡沫箱干冰浴运输。

用试剂盒[DNeasy PowerWater Kit (QIAGEN, Germany)]按照操作规范流程对留存 eDNA 的滤膜进行处理, 提取 eDNA。用线粒体 CO I 基因的宏条形码(引物 mlCOIintF/jgHCO2198R)进行 PCR 扩增<sup>[46-47]</sup>。PCR 反应体系为: 5×TransStart FastPfu 缓冲液 4 μL, 2.5 mmol/L dNTPs 2 μL, 上游引物 (5 μmol/L) 0.8 μL, 下游引物(5 μmol/L) 0.8 μL, TransStart FastPfu DNA 聚合酶 0.4 μL, BSA 0.2 μL, 模板 DNA 10 ng, ddH<sub>2</sub>O 补足至 20 μL。每个样本 3 个重复。PCR 扩增程序如下: 96 °C 预变性 5 min, 35 个循环(95 °C 变性 60 s, 47 °C 退火 120 s, 72 °C 延伸 60 s), 然后 72 °C 稳定延伸 5 min, 最后在 4 °C 进行保存(PCR 仪: ABI GeneAmp® 9700 型)。PCR 扩增产物在提取、纯化、定量之后在 Illumina Miseq 平台加标准接头进行建库测序, 获得 DNA 序列数据(上海美吉生物医药科技有限公司)。

测序所得的序列结果在美吉生物云平台(www.majorbio.com)上进行质控、拼接(用FLASH)、OTU聚类(用UPARSE, 99%的序列相似度)、物种注释(采用RDP classifier贝叶斯算法, 比对NCBI核酸序列数据库, 97%的分类置信度), 获得每份样品所监测到的物种组成及其相对丰度。统计本次eDNA监测到的鱼类物种组成, 统计监测逐个样品累计物种数, 用EstimateS (Version 9.1.0, Copyright R. K. Colwell: <http://purl.oclc.org/estimates>)计算监测结果的物种积累曲线。基于物种积累曲线计算每增加一个eDNA监测所增加的新物种记录数, 对新物种记录数和监测样品个数进行指数回归, 估算随着监测样品个数增加所可能达到的最大物种记录数。统计单个eDNA监测的监测效率, 估算检出80%、90%和95%的物种所需的监测样品个数。统计分析本次eDNA监测到的各鱼类物种的相对丰度。

## 2 结果与分析

### 2.1 捕捞监测的结果

本次捕捞监测捕捞量为平均每天每船70尾、16.5 kg, 每天记录到鱼类12~20种。15 d调查累计记录到35种鱼类, 隶属5目、6科(表1), 基于物种积累曲线估算捕捞监测的最大鱼类物种记录数为37种(最优估值), 单天捕捞监测的物种监测能力为(15.8±1.7)种, 监测效率为(42.7±4.6)%, 要达到80%、90%和95%以上的物种检出度分别至少需要监测8船·天、12船·天、16船·天(图1)。本次监测的渔获物中数量以短颌鲚最多, 占渔获

物总数的20.9%; 其次为麦瑞加拉鲛, 占渔获物总数的12.8%; 而后依次是达氏鲃、银鲷、翘嘴鲃、鲢、黑尾近红鲃等。重量以鳊最多, 占渔获物总重的19.1% (因捕到了1尾13875 g的大个体); 其次为草鱼, 占渔获物总重的14.6%; 然后是鲢, 占渔获物总重的11.3%; 再然后依次是麦瑞加拉鲛、鲤、翘嘴鲃等(表1)。

### 2.2 eDNA监测的结果

eDNA监测单个样品记录到鱼类物种20~40种, 13个样品累计记录到89种鱼类, 隶属28目、55科(表2) (部分鱼类因序列比对物种注释存在问题而未被记录), 基于物种积累曲线估算eDNA监测的最大鱼类物种记录数为99种(最优估值), 单样eDNA监测的物种监测能力为(25.5±4.7)种, 监测效率为(25.8±4.8)%, 达到80%、90%和95%的物种检出度分别需要10个、13个、17个样品(图2)。本次eDNA监测得到的各鱼类物种的相对丰度以草鱼最大, 占比达47.9%; 其次为银鲷, 占比为15.9%; 而后是鲢和黑尾近红鲃, 占比分别为6.7%和6.3% (表2)。

## 3 讨论

### 3.1 eDNA监测的物种检出能力和检出效率

本次eDNA监测调查了13个eDNA样品, 用线粒体CO I基因宏条形码(引物mlCOIintF/jgHCO2198R)共检出89种鱼类, 隶属28目、55科。其中有30种由历史捕捞调查结果所确认(图3)<sup>[41]</sup>, 由此可以确认其为正确识别结果。另外59种可能在序列比对物种注释中存在问题, 这个问题有望

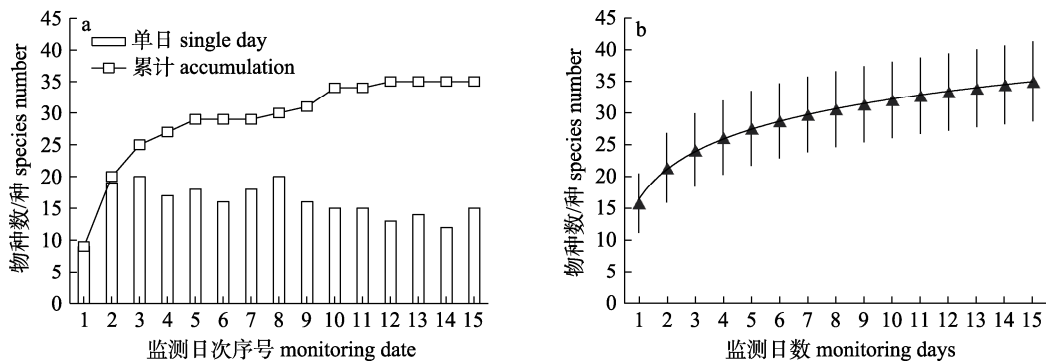


图1 捕捞监测的物种记录数(a)和物种积累曲线(b)

Fig. 1 The number of recorded fish species in fishing monitoring (a) and its species accumulation curve (b)

表 1 捕捞监测的渔获物尾数比和重量比  
Tab. 1 Proportion of number and weight of each species in fishing survey

物种 species	拉丁名 scientific name	尾数比/% proportion of number	重量比/% proportion of weight
短颌鲚	<i>Coilia brachygnathus</i>	20.85	3.46
麦瑞加拉鲮	<i>Cirrhhina mrigala</i>	12.80	6.74
达氏鲃	<i>Chanodichthys dabryi</i>	7.47	3.31
银鲴	<i>Xenocypris argentea</i>	7.27	3.30
翘嘴鲌	<i>Culter alburnus</i>	7.08	6.16
鲢	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	5.72	11.32
黑尾近红鲌	<i>Ancherythroculter nigrocauda</i>	5.53	2.59
铜鱼	<i>Coreius heterodon</i>	4.95	2.98
鲇	<i>Silurus asotus</i>	4.36	5.51
鲂	<i>Megalobrama skolkovii</i>	4.07	1.01
粗唇鲮	<i>Leiocassis crassilabris</i>	3.01	1.58
长吻鲮	<i>Leiocassis longirostris</i>	2.42	2.54
草鱼	<i>Ctenopharyngodon idellus</i>	1.84	14.60
蒙古鲃	<i>Chanodichthys mongolicus</i>	1.84	1.71
鳊	<i>Aristichthys nobilis</i>	1.75	19.11
鲤	<i>Cyprinus carpio</i>	1.36	6.57
瓦氏黄颡鱼	<i>Pelteobagrus vachellii</i>	1.36	0.51
鳊	<i>Parabramis pekinensis</i>	1.07	1.15
长蛇鲃	<i>Saurogobio dumerili</i>	0.97	0.60
大口鲇	<i>Silurus meridionalis</i>	0.58	0.29
光泽黄颡鱼	<i>Pelteobagrus nitidus</i>	0.58	0.13
鲫	<i>Carassius auratus</i>	0.48	0.14
飘鱼	<i>Pseudolaubuca sinensis</i>	0.48	0.20
鳊	<i>Siniperca chuatsi</i>	0.39	0.15
鳊	<i>Elopichthys bambusa</i>	0.29	0.40
拟尖头鲌	<i>Culter oxycephaloides</i>	0.29	0.26
青鱼	<i>Mylopharyngodon piceus</i>	0.29	2.54
杂交鲟		0.19	0.78
斑鳊	<i>Siniperca scherzeri</i>	0.10	0.03
赤眼鲮	<i>Squaliobarbus curriculus</i>	0.10	0.23
鲮	<i>Cirrhinus molitorella</i>	0.10	0.04
蛇鲃	<i>Saurogobio dabryi</i>	0.10	0.00
似鳊	<i>Pseudobrama simoni</i>	0.10	0.00
团头鲂	<i>Megalobrama amblycephala</i>	0.10	0.01
刀鲚	<i>Coilia ectenes</i>	0.10	0.05

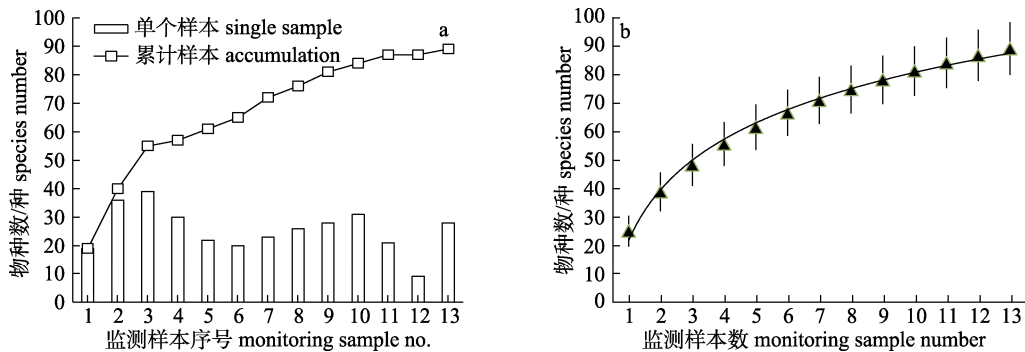


图 2 eDNA 监测的物种记录数(a)和物种积累曲线(b)

Fig. 2 The number of recorded fish species in eDNA monitoring (a) and its species accumulation curve (b)

表 2 eDNA 监测的各物种 eDNA 相对丰度

Tab. 2 The relative richness of each species in eDNA monitoring

目 order	科 family	物种 species	中文注释说明 annotation	相对丰度% relative richness
Cypriniformes	Xenocypridae	<i>Ctenopharyngodon idella</i>	草鱼*	47.91
Cypriniformes	Xenocypridae	<i>Xenocypris argentea</i>	银鲴*	15.94
Cypriniformes	Xenocypridae	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	鲢*	6.72
Cypriniformes	Xenocypridae	<i>Ancherythroculter nigrocauda</i>	黑尾近红鲌*	6.32
unclassified_Actinopteri	Sphyraenidae	<i>Sphyraena acutipinnis</i>	尖鳍鲟, 鲟科	2.33
Osteoglossiformes	Mormyridae	<i>Petrocephalus simus</i>	岩头鱼, 象鼻鱼科	1.92
Siluriformes	Siluridae	<i>Silurus meridionalis</i>	大口鲶*	1.80
Cypriniformes	Xenocypridae	<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>	鳊*	1.76
Pleuronectiformes	Cynoglossidae	<i>Symphurus thermophilus</i>	蜚栖无线鳎, 舌鳎科	1.59
Siluriformes	Bagridae	<i>Leiocassis longirostris</i>	长吻鲶*	1.57
Cypriniformes	Xenocypridae	<i>Squaliobarbus curriculus</i>	赤眼鲮*	1.43
Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Cyprinus carpio</i>	鲤*	0.97
Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Cirrhinus mrigala</i>	麦瑞加拉鲮*	0.82
Stomiiformes	Diplophidae	<i>Triplophos hemingi</i>	三钻光鱼, 双光鱼科	0.73
Gobiiformes	Gobiidae	<i>Eviota zonura</i>	绿带矾塘鳢, 虾虎鱼科	0.59
Cypriniformes	Xenocypridae	<i>Mylopharyngodon piceus</i>	青鱼*	0.52
Gobiesociformes	Gobiesocidae	<i>Lepadichthys frenatus</i>	连鳍喉盘鱼, 喉盘鱼科	0.49
Siluriformes	Bagridae	<i>Pseudobagrus albomarginatus</i>	白边拟鲮*	0.42
Cypriniformes	unclassified Cypriniformes	<i>Megalobrama terminalis</i> or <i>Culter alburnus</i>	三角鲂* (或翘嘴鲌)	0.40
Aulopiformes	Paralepididae	<i>Lestidium prolixum</i>	长裸鳗鱼, 鳗鱼科	0.38
Uranoscopiiformes	Pinguipedidae	<i>Parapercis flavipinna</i>	黄鳍金枪鱼, 肥足鲷科	0.36
Siluriformes	Siluridae	<i>Silurus asotus</i>	鲶*	0.31
Cypriniformes	Gobionidae	<i>Coreius heterodon</i>	铜鱼*	0.26
Pempheriformes	Glucosomatidae	<i>Glucosoma buergeri</i>	叶鲷, 叶鲷科	0.26
Perciformes	Nototheniidae	<i>Patagonotothen tessellata</i>	短吻南美南极鱼, 南极鱼科	0.24
Perciformes	Zoarcidae	<i>Pachycara</i> sp. MOP110593	壮绵鲷属, 绵鲷科	0.24
Labriformes	Labridae	<i>Thalassoma lutescens</i>	胸斑锦鱼, 隆头鱼科	0.23
Cypriniformes	Xenocypridae	<i>Parabramis pekinensis</i>	鳊*	0.23
Cypriniformes	Xenocypridae	<i>Culter alburnus</i>	翘嘴鲌*	0.20
Cypriniformes	Xenocypridae	<i>Culter oxycephaloides</i>	拟尖头鲌*	0.19
Siluriformes	Loricariidae	<i>Schizolecis guntheri</i>	冈瑟氏裂盘鲶, 甲鲶科	0.19
Clupeiformes	Engraulidae	<i>Coilia brachygnathus</i>	短颌鲚*	0.16
Cypriniformes	Xenocypridae	<i>Chanodichthys mongolicus</i>	蒙古鲌*	0.14
Cypriniformes	Catostomidae	<i>Carpoides carpio</i>	鲤亚口鱼, 亚口鱼科	0.13
Siluriformes	Aspredinidae	<i>Pterobunocephalus depressus</i>	丘鲶, 疣体鲶科	0.11
Cypriniformes	Xenocypridae	<i>Elopichthys bambusa</i>	鳊*	0.11
Cypriniformes	Xenocypridae	<i>Pseudolaubuca sinensis</i>	飘鱼*	0.10
Acipenseriformes	Acipenseridae	<i>Acipenser baerii</i>	西伯利亚鲟, 鲟科	0.09
Gobiiformes	Gobiidae	<i>Gobiosoma bosc</i>	薄氏鮡虾虎鱼, 虾虎鱼科	0.08
Gobiiformes	Gobiidae	<i>Odontamblyopus rubicundus</i>	红狼牙虾虎鱼*	0.08
Syngnathiformes	Callionymidae	<i>Repomucenus filamentosus</i>	斜棘鲷属, 鲷科	0.08
Cypriniformes	Danionidae	<i>Opsarius barna</i>	巴纳低线鳉, 鲈亚科	0.07
Cypriniformes	Gobionidae	<i>Squalidus argentatus</i>	银鲟*	0.07
Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Carassius auratus</i> or <i>Megalobrama amblycephala</i> or <i>Carassius cuvieri</i>	鲫* (或团头鲂, 白鲫)	0.06
Perciformes	Psychrolutidae	<i>Cottunculus microps</i>	极地隐棘杜父鱼, 隐棘杜父鱼科	0.06
Siluriformes	Bagridae	<i>Pseudobagrus brevicorpus</i>	短体拟鲮, 鲮科	0.06

(待续 to be continued)

(续表 2 Tab. 2 continued)

目 order	科 family	物种 species	中文注释说明 annotation	相对丰度% relative richness
Siluriformes	Loricariidae	<i>Harttia loricariformis</i>	哈氏甲鲶, 甲鲶科	0.06
Aulopiformes	Synodontidae	<i>Synodus</i> sp. 1 BOLD-2019	狗母鱼属, 狗母鱼科	0.06
Perciformes	Zoarcidae	<i>Zoarcis gillii</i>	吉氏绵鲷, 绵鲷科	0.06
Siluriformes	Bagridae	<i>Tachysurus nitidus</i>	光泽黄颡鱼*	0.06
Chaetodontiformes	Chaetodontidae	<i>Heniochus singularius</i>	四带马夫鱼, 蝴蝶鱼科	0.05
Cyprinodontiformes	Poeciliidae	<i>Gambusia affinis</i>	食蚊鱼*	0.05
Cypriniformes	Gastromyzontidae	<i>Pseudogastromyzon fasciatus</i>	拟腹吸鳅, 腹吸鳅科	0.04
Cypriniformes	Leuciscidae	<i>Tribolodon sachalinensis</i>	玫瑰三齿雅罗鱼, 鲤科	0.04
Cypriniformes	Xenocyprididae	<i>Pseudobrama simoni</i>	似鲮*	0.04
Holocentriiformes	Holocentridae	<i>Myripristis jacobus</i>	黑条锯鳞鱼, 鲷科	0.04
Lampriformes	Regalecidae	<i>Regalecus glesne</i>	皇带鱼, 皇带鱼科	0.04
Pleuronectiformes	Pleuronectidae	<i>Pleuronichthys cornutus</i>	木叶鲽, 鲽科	0.04
Syngnathiformes	Mullidae	<i>Upeneus sulphureus</i>	黄带绯鲤, 羊鱼科	0.04
Characiformes	Bryconidae	<i>Brycon chagrensis</i>	巴拿马啮脂鲤, 啮脂鲤科	0.03
Characiformes	Serrasalmidae	<i>Serrasalmus elongatus</i>	长身锯脂鲤, 锯脂鲤科	0.03
Clupeiformes	Clupeidae	<i>Potamothrissa acutirostris</i>	尖吻河棱鲢, 鲢科	0.03
Scombriformes	Stromateidae	<i>Peprilus triacanthus</i>	三刺低鳍鲷, 鲷科	0.03
Siluriformes	Loricariidae	<i>Peckoltia simulata</i>	梳钩鲶属, 甲鲶科	0.03
Carangiformes	Carangidae	<i>Elagatis</i> sp. BOLD:AAB3730	纺锤鲷属, 鲹科	0.02
Characiformes	Characidae	<i>Deuterodon langei</i>	兰格氏副齿脂鲤, 脂鲤科	0.02
Cypriniformes	Danionidae	<i>Rasbora myersi</i>	麦氏波鱼, 鲤科	0.02
Cypriniformes	Xenocyprididae	<i>Hemiculter bleekeri</i>	贝氏鲮*	0.02
Cyprinodontiformes	Poeciliidae	<i>Xiphophorus birchmanni</i>	剑尾鱼, 花鲷科	0.02
Gobiiformes	Gobiidae	<i>Rhinogobius similis</i>	真吻虾虎鱼, 虾虎鱼科	0.02
Pempheriformes	Pempheridae	<i>Pempheris</i> sp. LIDMA2395-15	单鳍鱼属, 单鳍鱼科	0.02
Perciformes	Zoarcidae	<i>Lycodes diapterus</i>	黑狼绵鲷, 绵鲷科	0.02
Siluriformes	Plotosidae	<i>Cnidoglanis macrocephalus</i>	大头荨麻鳃鲶, 鳃鲶科	0.02
Scatophagiformes	Scatophagidae	<i>Scatophagus argus</i>	金钱鱼, 金钱鱼科	0.02
Blenniiformes	Tripterygiidae	<i>Enneanectes reticulatus</i>	粗头岩游鲷, 三鳍鲷科	0.02
Centrarchiformes	Centrarchidae	<i>Enneacanthus gloriosus</i>	蓝点九棘日鲈, 太阳鱼科	0.02
Clupeiformes	Clupeidae	<i>Gonialosa manmina</i>	恆河多鳞鲱, 鲱科	0.02
Cypriniformes	Gobionidae	<i>Saurogobio dabryi</i>	蛇鲃*	0.02
Cypriniformes	Nemacheilidae	<i>Tuberoschistura baenzigeri</i>	朋氏瘤粒条鳅, 条鳅亚科	0.02
Cyprinodontiformes	Goodeidae	<i>Goodea atripinnis</i>	黑鳍谷鲃, 古德鲷科	0.02
Cyprinodontiformes	Rivulidae	<i>Nematolebias whitei</i>	怀氏线小鲷, 溪鲷科	0.02
Gobiiformes	Gobiidae	<i>Amblyeleotris marquesas</i>	钝塘鳢属, 虾虎鱼科	0.02
Gobiiformes	Gobiidae	<i>Bathygobius geminatus</i>	深虾虎鱼属, 虾虎鱼科	0.02
Lutjaniformes	Lutjanidae	<i>Pterocaesio digramma</i>	双带鳞鳍梅鲷, 梅鲷科	0.02
Perciformes	Percidae	<i>Percina gymnocephala</i>	裸首小鲈, 鲈科	0.02
Perciformes	Serranidae	<i>Rypticus subbifrenatus</i>	斑纹皂鲈, 鲈科	0.02
Siluriformes	Amblycipitidae	<i>Amblyceps mangois</i>	钝头鲇, 钝头鲇科	0.02
Siluriformes	Chacidae	<i>Chaca bankanensis</i>	班甘连尾鲃, 连尾鲃科	0.02
Spariformes	Lethrinidae	<i>Lethrinus crocineus</i>	印度洋裸颊鲷, 裸颊鲷科	0.02

注: 用星号\*标注的物种为历史捕捞调查结果所确认的物种。

Note: The species labeled with asterisk \* was recorded in the historical traditional fishing survey.



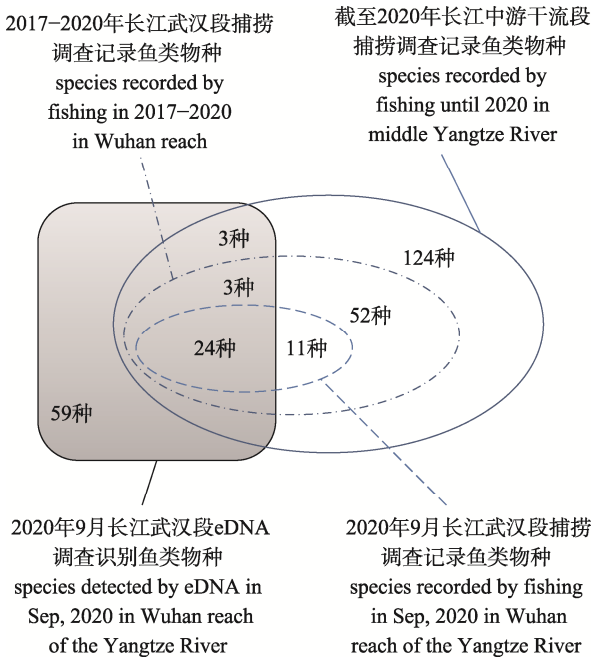


图3 eDNA 监测识别的鱼类物种与捕捞调查记录的鱼类物种间的关系

Fig. 3 The relationship among the species lists of eDNA survey and fishing survey

随着相关数据库的逐步完善而得以解决<sup>[48]</sup>。当前也可以根据已知知识和证据对部分物种注释进行订正,比如长江自然水域中截至目前未捕捞监测到西伯利亚鲟,但捕捞监测到了养殖逃逸进入长江的杂交鲟,所以推测 eDNA 监测注释到的西伯利亚鲟大概率是来自杂交鲟 eDNA 信号,类似情况还有 eDNA 监测注释到的鲤亚口鱼可能是长江珍稀鱼类胭脂鱼(*Myxocyprinus asiaticus*)的 eDNA 信号, eDNA 监测注释到的兰格氏副齿脂鲤可能是养殖引种后逃逸到长江自然水体的短盖巨脂鲤(*Colossoma brachypomus*)(2019 年在洞庭湖的自然水域、2020 年在鄱阳湖的自然水域均有记录)的 eDNA 信号等(表 2)。

eDNA 监测调查对传统捕捞调查的物种记录具有较高的覆盖度,并且这一覆盖度将随着相关数据库的完善而提高。本次 15 d 共 37 网次的 2.5 指流刺网捕捞调查监测累计记录到 35 种鱼类,其中 24 种在 eDNA 监测中被识别,即本次 eDNA 监测确切识别的物种组成对本次捕捞调查所记录到的物种组成的覆盖度为 68.6%(图 3)。2017—2020 年长江渔业资源与环境调查中武汉江段共进行捕

捞调查 92 船·天,涉及多种网目的定置刺网、流刺网以及地笼,累计记录到 90 种鱼类(数据来自“长江中游渔业资源与环境调查 2017—2020 年进展报告”,未公开发表资料),其中 27 种在本次 eDNA 监测中被识别,覆盖度为 30.0%(图 3)。如果 eDNA 监测的物种未确认或错误注释问题随着相关数据库的完善而得以缓解, eDNA 监测对传统捕捞调查所记录物种的覆盖度将会有相应提高。

基于物种积累曲线的估算,2020 年 9 月这个监测时段,长江武汉新洲双柳镇江段水域用 eDNA (线粒体 CO1 基因宏条形码)可监测的鱼类物种数为 99 左右,单样品 eDNA 监测的鱼类物种检出能力为 26 种左右,监测效率为 25.8%左右,达到 80% (82 个物种)、90% (89 个物种)和 95% (94 个物种)的物种检出度分别需要 10 个、13 个、17 个平行样品左右。捕捞(2.5 指流刺网)可监测的物种数为 37 左右,单船·天捕捞监测的物种监测能力为 16 种左右,监测效率为 42.7%左右,要达到 80% (30 个物种)、90% (33 个物种)和 95% (35 个物种)的物种检出度分别需要监测 8 船·天、12 船·天、16 船·天。

本次 eDNA 监测调查中,单样品 eDNA 监测的鱼类物种检出对单船·天捕捞监测的鱼类物种记录的覆盖度约为 65.7%。因为不同的 DNA 宏条形码对不同的生物类群有不同的辨识能力<sup>[46-47,49]</sup>,因此在 eDNA 监测中应用多个宏条形码进行监测往往会比应用单个宏条形码进行监测所检出的物种数要多,但所需要投入的资源也多。与之平行,不同的网具所捕获的水生生物类型也有差异,在传统捕捞中用多类型多规格的捕捞网具进行监测往往会比用单类型单规格的捕捞网具所捕获记录到的物种数要多<sup>[15]</sup>,同样,所需要投入的资源也多。本研究聚焦单 eDNA 样品的物种组成检出能力这一科学问题,避开多宏条形码和多网具的影响, eDNA 监测只分析一对通用引物的检出结果,传统捕捞监测只统计一种捕捞网具捕捞渔获。本研究中,单样品 eDNA 检出本次捕捞监测记录到的物种能力约为 10 种(10.4±2.2),对比单船·天捕捞监测的物种监测能力(16 种左右),单样品 eDNA 监测的鱼类物种检出对单船天捕捞监测的

鱼类物种记录的覆盖度约为 65.7%。考虑到 eDNA 监测中被监测到但未被准确识别的物种, 单样品 eDNA 监测到的鱼类物种对单船天捕捞到的鱼类物种应该有更高的覆盖度。

### 3.2 保证 eDNA 监测效力的支撑性需求

eDNA 监测需要更完善的条形码数据库做支撑。eDNA 监测中未被确认正确识别的物种有 59 种, 分别属于鲟形目(1 种)、鲱形目(3 种)、鲤形目(6 种)、鲇形目(8 种)、鲈形目(7 种)、虾虎鱼目(5 种)、鲿形目(3 种)、脂鲤目(3 种), 以及仙女鱼目、拟金眼鲷目、海龙鱼目、鲾形目各 2 种, 喉盘鱼目、鲾形目、鲈形目、日鲈目、蝴蝶鱼目、金鳞鱼目、隆头鱼目、月鱼目、笛鲷目、骨舌鱼目、鲭形目、鲷形目、巨口鱼目、金钱鱼目、膳形目各 1 种。本次捕捞调查中有 11 种未被 eDNA 监测所监测识别到, 分别属于鲟形目(1 种)、鲱形目(1 种)、鲤形目(5 种)、鲇形目(2 种)、鲈形目(2 种)。2017—2020 年捕捞调查中有 63 种未被 eDNA 监测所监测识别到, 分别属于鲟形目(1 种)、鳊鲃目(1 种)、鲱形目(1 种)、鲤形目(39 种)、鲇形目(10 种)、颌针鱼目(1 种)、合鳃鱼目(2 种)、鲈形目(4 种)、虾虎鱼目(3 种)、攀鲈目(1 种)(数据来自“长江中游渔业资源与环境调查 2017—2020 年进展报告”, 未公开发表资料)。有理由认为有一部分捕捞调查到但 eDNA 监测未检出的鱼类物种已被监测到但未被准确识别, 比如, 捕捞调查中的杂交鲟, eDNA 却监测注释出西伯利亚鲟; 另如, 2017—2020 长江中游干流捕捞记录到 6 种拟鲢(数据来自“长江中游渔业资源与环境调查 2017—2020 年进展报告”, 未公开发表资料), 但本次 eDNA 监测却监测注释到短体拟鲢(韩国的一个濒危种), 可能是因为短体拟鲢的相应基因序列已发布<sup>[50]</sup>, 长江的几种拟鲢的相应基因序列尚缺, 在序列比对注释中将长江的某个/某几个拟鲢的 eDNA 信号被错误标注为近缘的短体拟鲢。因此随着条形码数据库的不断完善, eDNA 监测将发挥出更大的监测效力。目前, 根据中国水产科学研究院的科技基础工作部署, 中国水产科学研究院长江水产研究所负责开展长江水产种质资源凭证标本及其 DNA 条形码补充采集工作。该工作的开展将推动

条形码数据库的不断完善, 进而助力 eDNA 监测效力的发挥。

eDNA 监测需要保证平行样数量及设置与水体规模、物种组成密度、鱼类资源密度的相称。eDNA 监测到的各物种相对丰度, 与 eDNA 的释放、存留、输移、降解等动力学过程相关<sup>[51]</sup>, 本研究结果也证实, eDNA 所监测到的各鱼类物种的相对丰度与捕捞所监测到的各鱼类物种的数量和重量整体呈正相关(表 1、表 2)。因为 eDNA 监测的样品采集是一种有限取样, 具有一定的随机性, 所以为了 eDNA 监测能够有更高的覆盖度, 采样中需要根据水体规模、物种组成密度、鱼类资源密度进行相应的平行样设置。本次调查期间(2020 年 9 月), 参考水文站汉口站的监测流量在 36300~44800 m<sup>3</sup>/s 之间, 平均每天每船的监测捕捞量为 70 尾、16.5 kg, 记录到物种数为 16, 单样品 eDNA 监测的鱼类物种检出能力为 26 种左右, 监测效率为 25.8%左右, 达到 80%、90%和 95%的物种检出度分别需要 10 个、13 个、17 个平行样品左右。随着 2021 年长江重点水域全面禁捕的落地实施, 长江的鱼类资源量将会有所恢复, 进而各断面鱼类种类数也将会有所回升, 因而单样品 eDNA 监测的鱼类物种检出能力和监测效率也将有所增加。因为长江具有明显的季节性水文节律, 丰水期、平水期、枯水期的流量具有显著差异, 在禁捕后物种组成密度、鱼类资源密度没有显著性季节差异的情况假设下, 相比于丰水期(本次调查的时期), 平水期和枯水期的 eDNA 监测将具有更高的鱼类物种检出能力和监测效率。在未来的 eDNA 监测工作中, 在 80%的检出度目标下, 10 个平行样将是一个合适的最大平行样数量, 在 95%的检出度目标下, 17 个平行样将是一个合适的最大平行样数量。其他长江江段, 甚至其他大型河流可以根据长江武汉江段的情况进行简单的推测判断。

## 4 结论

为了探讨大型河流中的 eDNA 监测效率, 2020 年 9 月(丰水期), 作者在长江武汉江段针对鱼类组成开展了传统捕捞监测和 eDNA 监测, 监测



期间参考水文站汉口站的流量在 36300~44800 m<sup>3</sup>/s 之间。结果显示, (1) 本次 eDNA 监测共检出鱼类 89 种, 其中 30 种可与历史捕捞调查结果互相确认, 覆盖 68.6% 的本次捕捞调查所记录到的鱼类物种, 覆盖 30.0% 的 2017—2020 年捕捞调查所记录到的鱼类物种, 另有 59 种未被确认正确识别的物种, 需要建立更完善的条形码数据库来解决这个问题; (2) 在长江武汉江段 2020 年 9 月的流量规模(汉口站 36300~44800 m<sup>3</sup>/s)、物种组成密度(2.5 指流刺网 15 天船捕捞记录到 35 种鱼类)、鱼类资源密度(每天每船 70 尾、16.5 kg)条件下, 单样品 eDNA 监测的鱼类物种检出能力约为 26 种, 检出效率约为 25.8%, 在 80% 和 95% 的检出度目标下, 分别需要采集 10 个和 17 个平行样, 其他长江江段, 甚至其他大型河流进行 eDNA 监测所需设置的平行样数量可以根据长江武汉江段的情况进行简单的推测判断。另外, 本研究表明, 更完善的 DNA 宏条形码数据库和合适的平行样设置是未来 eDNA 监测作为一个常规监测手段而进行运用的前提。

#### 参考文献:

- [1] Wu J Y, Xue D Y, Zhao F W, et al. Progress of the study on investigation and conservation of biodiversity in China[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2013, 29(2): 146-151. [武建勇, 薛达元, 赵富伟, 等. 中国生物多样性调查与保护研究进展[J]. *生态与农村环境学报*, 2013, 29(2): 146-151.]
- [2] Mi X C, Guo J, Hao Z Q, et al. Chinese forest biodiversity monitoring: Scientific foundations and strategic planning[J]. *Biodiversity Science*, 2016, 24(11): 1203-1219. [米湘成, 郭静, 郝占庆, 等. 中国森林生物多样性监测: 科学基础与执行计划[J]. *生物多样性*, 2016, 24(11): 1203-1219.]
- [3] Dixon K M, Cary G J, Worboys G L, et al. Features associated with effective biodiversity monitoring and evaluation[J]. *Biological Conservation*, 2019, 238: 108221.
- [4] Mi X C. Biodiversity monitoring and research are basis of national park conservation[J]. *Biodiversity Science*, 2019, 27(1): 1-4. [米湘成. 生物多样性监测与研究是国家公园保护的基础[J]. *生物多样性*, 2019, 27(1): 1-4.]
- [5] Pergl J, Pyšek P, Essl F, et al. Need for routine tracking of biological invasions[J]. *Conservation Biology*, 2020, 34(5): 1311-1314.
- [6] He F Z, Bremerich V, Zarfl C, et al. Freshwater megafauna diversity: Patterns, status and threats[J]. *Diversity and Distributions*, 2018, 24(10): 1395-1404.
- [7] Grill G, Lehner B, Thieme M, et al. Mapping the world's free-flowing rivers[J]. *Nature*, 2019, 569(7755): 215-221.
- [8] Barbarossa V, Schmitt R J P, Huijbregts M A J, et al. Impacts of current and future large dams on the geographic range connectivity of freshwater fish worldwide[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(7): 3648-3655.
- [9] Chen K, Olden J D. Threshold responses of riverine fish communities to land use conversion across regions of the world[J]. *Global Change Biology*, 2020, 26(9): 4952-4965.
- [10] He F Z, Zarfl C, Bremerich V, et al. The global decline of freshwater megafauna[J]. *Global Change Biology*, 2019, 25(11): 3883-3892.
- [11] Zhang H, Kang M, Shen L, et al. Rapid change in Yangtze fisheries and its implications for global freshwater ecosystem management[J]. *Fish and Fisheries*, 2020, 21(3): 601-620.
- [12] Zhang H, Wu J M, Gorfine H, et al. Inland fisheries development versus aquatic biodiversity conservation in China and its global implications[J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2020, 30(4): 637-655.
- [13] Anderson C B. Biodiversity monitoring, earth observations and the ecology of scale[J]. *Ecology Letters*, 2018, 21(10): 1572-1585.
- [14] Dong C, Yang Z, Gong Y, et al. Fish resource status and biodiversity conservation in the main channel of Three Gorges Reservoir[J]. *Journal of Hydroecology*, 2019, 40(1): 15-21. [董纯, 杨志, 龚云, 等. 三峡库区干流鱼类资源现状与物种多样性保护[J]. *水生态学杂志*, 2019, 40(1): 15-21.]
- [15] Wang Y P, Kuang Z, Lin D Q, et al. Community structure and species diversity of fish around the Xinzhou shoal in the Anqing section of the Yangtze River[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(7): 2417-2426. [王银平, 匡箴, 蔺丹清, 等. 长江安庆新洲水域鱼类群落结构及多样性[J]. *生态学报*, 2020, 40(7): 2417-2426.]
- [16] Duan X B, Xie Y J, Guo J, et al. Hydroacoustic surveys on temporal and spatial distribution of fishes in the section from Honghu to Yichang of the Yangtze River middle reaches[J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2016, 25(12): 1842-1849. [段辛斌, 谢意军, 郭杰, 等. 长江中游洪湖至宜昌江段鱼类空间分布特征的水声学研究[J]. *长江流域资源与环境*, 2016, 25(12): 1842-1849.]
- [17] Lian Y X, Yang X G, Wan A, et al. Evaluation of bait fish resources for Yangtze finless porise in Xijiang Oxbow, Anqing[J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2018, 27(5): 1051-1060. [连玉喜, 杨晓鸽, 万安, 等. 安庆

- 西江长江江豚饵料鱼资源评估[J]. 长江流域资源与环境, 2018, 27(5): 1051-1060.]
- [18] Zhang H, Li J Y, Wang C R, et al. Acoustic target strength of the endangered Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) by *ex situ* measurements and theoretical calculations[J]. Applied Sciences, 2018, 8(12): 2554.
- [19] Xie X, Zhang H, Sun L Y, et al. Target strength of four freshwater fish species in the Yangtze River based on cage and model method[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(5): 536-546. [谢晓, 张辉, 孙立元, 等. 基于网箱控制法和模型法的长江 4 种淡水鱼目标强度研究[J]. 中国水产科学, 2020, 27(5): 536-546.]
- [20] Lin D Q, Zhang H, Li J Y, et al. Target strength of four freshwater cultured fish species and a variance analysis[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2017, 24(1): 1-10. [蔺丹清, 张辉, 李君轶, 等. 4 种常见淡水养殖鱼类目标强度测定与差异分析[J]. 中国水产科学, 2017, 24(1): 1-10.]
- [21] Zhao M, Zhao M D, Ma C Y, et al. Studies on the application of the environmental DNA in aquatic ecosystem[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(4): 714-720. [赵明, 赵梦迪, 马春艳, 等. 环境 DNA 在水域生态中的研究进展[J]. 中国水产科学, 2018, 25(4): 714-720.]
- [22] Li M, Wei T T, Shi B Y, et al. Biodiversity monitoring of freshwater benthic macroinvertebrates using environmental DNA[J]. Biodiversity Science, 2019, 27(5): 480-490. [李萌, 尉婷婷, 史博洋, 等. 环境 DNA 技术在淡水底栖大型无脊椎动物多样性监测中的应用[J]. 生物多样性, 2019, 27(5): 480-490.]
- [23] Xu N, Xiong M H, Shao K, et al. Preliminary study on environmental DNA metabarcoding for detecting biodiversity in the middle and lower reaches of the Yangtze River[J]. Research of Environmental Sciences, 2020, 33(5): 1187-1196. [徐念, 熊美华, 邵科, 等. 长江中下游环境 DNA 宏条形码生物多样性检测技术初步研究[J]. 环境科学研究, 2020, 33(5): 1187-1196.]
- [24] Beng K C, Corlett R T. Applications of environmental DNA (eDNA) in ecology and conservation: Opportunities, challenges and prospects[J]. Biodiversity and Conservation, 2020, 29(7): 2089-2121.
- [25] Seymour M. Rapid progression and future of environmental DNA research[J]. Communications Biology, 2019, 2: 80.
- [26] Deiner K, Fronhofer E A, Mächler E, et al. Environmental DNA reveals that rivers are conveyor belts of biodiversity information[J]. Nature Communications, 2016, 7(1): 12544.
- [27] Chen L, Wu L, Liu Y, et al. Application of environmental DNA metabarcoding in ecology[J]. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(15): 4573-4582. [陈炼, 吴琳, 刘燕, 等. 环境 DNA metabarcoding 及其在生态学研究中的应用[J]. 生态学报, 2016, 36(15): 4573-4582.]
- [28] van der Heyde M, Bunce M, Wardell-Johnson G, et al. Testing multiple substrates for terrestrial biodiversity monitoring using environmental DNA metabarcoding[J]. Molecular Ecology Resources, 2020, 20(3): 732-745.
- [29] Jo T, Arimoto M, Murakami H, et al. Particle size distribution of environmental DNA from the nuclei of marine fish[J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53(16): 9947-9956.
- [30] Li M, Shan X J, Wang W J, et al. Studying the retention time of *Fenneropenaeus chinensis* eDNA in water[J]. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(1): 51-57. [李苗, 单秀娟, 王伟继, 等. 环境 DNA 在水体中存留时间的检测研究——以中国对虾为例[J]. 渔业科学进展, 2020, 41(1): 51-57.]
- [31] Wei N, Nakajima F, Tobino T. A microcosm study of surface sediment environmental DNA: Decay observation, abundance estimation, and fragment length comparison[J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52(21): 12428-12435.
- [32] Stoeckle B C, Kuehn R, Geist J. Environmental DNA as a monitoring tool for the endangered freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.): A substitute for classical monitoring approaches?[J]. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems, 2016, 26(6): 1120-1129.
- [33] Pont D, Rocle M, Valentini A, et al. Environmental DNA reveals quantitative patterns of fish biodiversity in large rivers despite its downstream transportation[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 10361.
- [34] Civade R, Dejean T, Valentini A, et al. Spatial representativeness of environmental DNA metabarcoding signal for fish biodiversity assessment in a natural freshwater system[J]. PLoS One, 2016, 11(6): e0157366.
- [35] Valentini A, Taberlet P, Miaud C, et al. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding[J]. Molecular Ecology, 2016, 25(4): 929-942.
- [36] Cilleros K, Valentini A, Allard L, et al. Unlocking biodiversity and conservation studies in high-diversity environments using environmental DNA (eDNA): A test with Guianese freshwater fishes[J]. Molecular Ecology Resources, 2019, 19(1): 27-46.
- [37] Lugg W H, Griffiths J, van Rooyen A R, et al. Optimal survey designs for environmental DNA sampling[J]. Methods in Ecology and Evolution, 2018, 9(4): 1049-1059.
- [38] Schmelzle M C, Kinziger A P. Using occupancy modelling to compare environmental DNA to traditional field methods for regional-scale monitoring of an endangered aquatic species[J]. Molecular Ecology Resources, 2016, 16(4): 895-908.

- [39] Cao W X. Several issues concerning the protection of fish resources in the Yangtze Basin[J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin, 2008, 17(2):163-164. [曹文宣. 有关长江流域鱼类资源保护的几个问题[J]. 长江流域资源与环境, 2008, 17(2):163-164.]
- [40] Liu F, Lin P C, Li M Z, et al. Situations and conservation strategies of fish resources in the Yangtze River basin[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2019, 43(S1): 144-156. [刘飞, 林鹏程, 黎明政, 等. 长江流域鱼类资源现状与保护对策[J]. 水生生物学报, 2019, 43(S1): 144-156.]
- [41] Zhang H, Jarić I, Roberts D L, et al. Extinction of one of the world's largest freshwater fishes: Lessons for conserving the endangered Yangtze fauna[J]. Science of the Total Environment, 2020, 710: 136242.
- [42] Announcement of the Ministry of Agriculture on announcement of the list of the first to completely ban the capture of aquatic life reserves in the Yangtze River Basin[EB/OL]. (2017-11-30). [http://www.cjyzbgs.moa.gov.cn/tzgg/201904/t20190428\\_6220287.htm](http://www.cjyzbgs.moa.gov.cn/tzgg/201904/t20190428_6220287.htm). [农业部关于公布率先全面禁捕长江流域水生生物保护区名录的通告[EB/OL]. (2017-11-30). [http://www.cjyzbgs.moa.gov.cn/tzgg/201904/t20190428\\_6220287.htm](http://www.cjyzbgs.moa.gov.cn/tzgg/201904/t20190428_6220287.htm).]
- [43] Notice of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs on adjusting the management system of special fishing in the Yangtze River Basin[EB/OL]. (2019-05-21). [http://www.cjyzbgs.moa.gov.cn/zcjd/201905/t20190521\\_6313317.htm](http://www.cjyzbgs.moa.gov.cn/zcjd/201905/t20190521_6313317.htm). [农业农村部关于调整长江流域专项捕捞管理制度的通告[EB/OL]. (2019-05-21). [http://www.cjyzbgs.moa.gov.cn/zcjd/201905/t20190521\\_6313317.htm](http://www.cjyzbgs.moa.gov.cn/zcjd/201905/t20190521_6313317.htm).]
- [44] Notice of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs on the scope and time of prohibition of fishing in key waters of the Yangtze River Basin[EB/OL]. (2019-12-27). [http://www.cjyzbgs.moa.gov.cn/tzgg/201912/t20191227\\_6334009.htm](http://www.cjyzbgs.moa.gov.cn/tzgg/201912/t20191227_6334009.htm). [农业农村部关于长江流域重点水域禁捕范围和时间的通告[EB/OL]. (2019-12-27). [http://www.cjyzbgs.moa.gov.cn/tzgg/201912/t20191227\\_6334009.htm](http://www.cjyzbgs.moa.gov.cn/tzgg/201912/t20191227_6334009.htm).]
- [45] Xinhua News Agency. Xinhua review: Promote well-coordinated environmental conservation and avoid excessive development is a historic responsibility[EB/OL]. (2016-01-07). [http://news.xinhuanet.com/comments/2016-01/07/c\\_1117705993.htm](http://news.xinhuanet.com/comments/2016-01/07/c_1117705993.htm). [新华社. 新华时评: “共抓大保护, 不搞大开发”是历史责任[EB/OL]. (2016-01-07). [http://news.xinhuanet.com/comments/2016-01/07/c\\_1117705993.htm](http://news.xinhuanet.com/comments/2016-01/07/c_1117705993.htm).]
- [46] Giebner H, Langen K, Bourlat S J, et al. Comparing diversity levels in environmental samples: DNA sequence capture and metabarcoding approaches using 18S and COI genes[J]. Molecular Ecology Resources, 2020, 20(5): 1333-1345.
- [47] Collins R A, Bakker J, Wangenstein O S, et al. Non-specific amplification compromises environmental DNA metabarcoding with COI[J]. Methods in Ecology and Evolution, 2019, 10(11): 1985-2001.
- [48] Ravindran S. Turning discarded DNA into ecology gold[J]. Nature, 2019, 570(7762): 543-545.
- [49] Zhang S, Zhao J D, Yao M. A comprehensive and comparative evaluation of primers for metabarcoding eDNA from fish[J]. Methods in Ecology and Evolution, 2020, 11(12): 1609-1625.
- [50] Kim S K, Choi E H, Hong K B, et al. Complete mitochondrial genome of the Korean stumpy bullhead *Pseudobagrus brevicarpus* (Siluriformes, Bagridae)[J]. Mitochondrial DNA, 2011, 22(3): 44-46.
- [51] Barnes M A, Turner C R. The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics[J]. Conservation Genetics, 2016, 17(1): 1-17.

## Environmental DNA metabarcoding utilization efficiency in monitoring large river fish species composition: a case study in the Wuhan transect of the Yangtze River

YANG Haile, WU Jinming, ZHANG Hui, DU Hao, LI Junyi, WANG Chengyou, SHEN Li, LIU Zhigang, WEI Qiwei

Key Laboratory of Freshwater Biodiversity Conservation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China

**Abstract:** Large rivers are the key regions of aquatic biodiversity. Recently, most large rivers are under significant anthropogenic pressure, and the aquatic biodiversity is being heavily and negatively affected. Consequently, effective biodiversity conservation and management would be required, which depends on accurate, timely, and reliable state assessments, as well as changes in the aquatic communities. However, a major limitation of past assessment methods was their high cost, methodological diversity across taxonomic groups, and the inability of spatiotemporal upscaling of the methods. Therefore, novel technologies would be crucially required in the field. The use of environmental DNA (eDNA) metabarcoding in biodiversity monitoring and surveys is an example of such a novel technology advancement, which would be a game-changer for large river bioassessment and biodiversity monitoring. Until recently, certain studies are available on the origin, state, transport, and fate of the eDNA. However, less is known about the efficiency of the eDNA metabarcoding monitoring aquatic biodiversity in large rivers, which determined the processes of using eDNA in biodiversity monitoring. Therefore, this study focused on the efficiency of the eDNA metabarcoding monitoring in large rivers, taking a transect of Yangtze River in Wuhan as a case study. In this case study, we surveyed the fish species composition using both traditional fishing (15 days with a single boat) and eDNA survey (13 parallel samples with a single metabarcoding) in September 2020. The results of the eDNA survey showed the detection of 89 fish species (13 eDNA samples detected using the primers mlCOIintF and jgHCO2198R), in which 30 fish species were recorded in the historical traditional fishing survey and 59 species were not. In other words, more reference sequences of the fishes in the Yangtze River would be necessary for the DNA metabarcoding database. In this case study, 68.6% of the fish species recorded in the traditional fishing (15 days) were detected by using the eDNA survey (13 eDNA samples). Nearly 26 fish species could be detected in a single eDNA sample. Based on the species accumulation curves, we estimated that the upper limit of the fish species that could be detected by eDNA metabarcoding (using the primers mlCOIintF and jgHCO2198R) was nearly 99. The efficiency of the eDNA metabarcoding monitoring by a single eDNA sample was nearly 25.8%. With the goals of detecting 80% and 95% of the fish species in this transect, 10 and 17 parallel eDNA samples would be necessary, respectively. Considering the discharge of the Yangtze River in September and the Fishing Ban of the Yangtze River since 2021, no more parallel eDNA samples would be required in this transect in the future. In other transects of the Yangtze River, even other large rivers, the need for parallel eDNA samples could be roughly estimated referring to the number of the parallel samples in the Wuhan transect of the Yangtze River based on the discharge, fish diversity, and abundance. Our results suggested that a complete DNA metabarcoding database and suitable parallel sample setting would be pivotal for using eDNA as a routine biodiversity monitoring method in the future.

**Key words:** the Yangtze River; fish; species composition; environmental DNA metabarcoding; environmental DNA monitoring; monitoring efficiency

**Corresponding author:** WEI Qiwei. E-mail: weiqw@yfi.ac.cn